

**METHOD OF DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF OBLIGATORY FORMS OF PRE-CANCER AND MALIGNANT NEOPLASMS**

**Abstract**

FIELD: oncology. SUBSTANCE: juice is taken fasting out of nail phalanx of hand. Samples of native blood 12-15 times diluted with physiological solution are prepared. Laser correlation spectroscopy of native plasma of blood are performed. For 8 min, 800000 spectra are accumulated. When in human blood plasma, particles with hydrodynamic radii 5-30 nm in proportion 35-55% are detected, obligatory form of pre-cancer in patient is diagnosed. If percentage of above-mentioned particles reaches 55% or more, malignant neoplasms in patient are stated. When other proportions of these particles are found, no diseases of the mentioned type are diagnosed. Method allows revealing and estimating changes in homeostasis. EFFECT: increased accuracy and rapidity of testing. 1 tbl



(19) RU<sup>(11)</sup> 2 105 306<sup>(13)</sup> C1  
(51) МПК<sup>6</sup> G 01 N 33/48

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 96119858/14, 01.10.1996

(46) Дата публикации: 20.02.1998

(56) Ссылки: 1. Мерлич К.И. и др. Субфракционный состав плазмы крови при доброкачественных опухолях и раке молочной железы по данным лазерной корреляционной спектроскопии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1993, N 8, с. 193 - 195. 2. RU, 2042133 C1 (Шахламов В.А., Шахламов А.В.), 20.08.95, G 01 N 33/48. 3. DE, 3324563 OS (Emmanuel Deutsch), 01.12.84, G 01 N 33/48.

(71) Заявитель:

Аклев Александр Васильевич,  
Пашков Игорь Александрович

(72) Изобретатель: Аклев Александр Васильевич,  
Пашков Игорь Александрович

(73) Патентообладатель:

Аклев Александр Васильевич,  
Пашков Игорь Александрович

(54) СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОБЛИГАТНЫХ ФОРМ ПРЕДРАКА И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

(57) Реферат:

Способ используется в медицине, а именно в онкологии. Из мякоти ногтевой фаланги кисти берут натошак крови. Приготавливают образцы нативной плазмы крови, разведенной физиологическим раствором в 12-15 раз. Проводят лазерную корреляционную спектроскопию нативной плазмы крови. В течение 8 минут проводят накопление спектра (до 800 000 накоплений). При определении в плазме крови человека наличия частиц с гидродинамическими радиусами 5-30 мкм в соотношении 35-55% у

обследуемого диагностируют облигатную форму предрака. При определении 55% и выше этих частиц диагностирую злокачественные новообразования. При определении других соотношений этих же частиц делают вывод об отсутствии данных заболеваний. Способ позволяет выявить и оценить изменения в системе гомеостаза. При этом обеспечивается высокая точность, экспрессность и невозмущающий исследуемую систему характер изменений. 1 табл.

RU 2 105 306 C1

RU 2 105 306 C1



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 105 306** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) Int. Cl. <sup>6</sup> **G 01 N 33/48**

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 96119858/14, 01.10.1996

(46) Date of publication: 20.02.1998

(71) Applicant:  
Akleev Aleksandr Vasil'evich,  
Pashkov Igor' Aleksandrovich

(72) Inventor: Akleev Aleksandr Vasil'evich,  
Pashkov Igor' Aleksandrovich

(73) Proprietor:  
Akleev Aleksandr Vasil'evich,  
Pashkov Igor' Aleksandrovich

(54) **METHOD OF DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF OBLIGATORY FORMS OF PRE-CANCER AND MALIGNANT NEOPLASMS**

(57) Abstract:

FIELD: oncology. SUBSTANCE: juice is taken fasting out of nail phalanx of hand. Samples of native blood 12-15 times diluted with physiological solution are prepared. Laser correlation spectroscopy of native plasma of blood are performed. For 8 min, 800000 spectra are accumulated. When in human blood plasma, particles with hydrodynamic radii 5-30 nm in proportion

35-55% are detected, obligatory form of pre-cancer in patient is diagnosed. If percentage of above-mentioned particles reaches 55% or more, malignant neoplasms in patient are stated. When other proportions of these particles are found, no diseases of the mentioned type are diagnosed. Method allows revealing and estimating changes in homeostasis. EFFECT: increased accuracy and rapidity of testing. 1 tbl

RU 2 105 306 C1

RU 2 105 306 C1

использовано в условиях массовых медицинских осмотров населения для выделения ограниченных групп людей, подозреваемых на наличие злокачественных новообразований и нуждающихся в углубленном медицинском обследовании с целью уточнения диагноза.

Известен способ диагностики злокачественных новообразований (см. з. РФ N 93016614/14, заявл. 29.03.93, опубл. 27.07.95., G 01 N 33/48 "Способ отбора лиц для выявления злокачественных новообразований") путем взятия у обследуемых проб биологического материала, выделения из него культур эшерихии и стрептококка с последующей инкубацией в присутствии клеток опухоли L 929, приготовления мазка, его окрашивания и микроскопического исследования с расчетом диагностического индекса - индекса целых клеток (ИЦК). При определении, в соответствии с этим способом, ИЦК 50-60% обследуемых отбирают в группу риска, а при ИЦК 49% и ниже - в группу больных со злокачественными новообразованиями.

Недостатками данного способа являются трудоемкость осуществления, невысокие точность и экспрессность способа.

Наиболее близким по технической сущности, достигаемому эффекту к заявляемому способу и выбранным в качестве прототипа является способ дифференциальной диагностики облигатных форм предрака и злокачественных новообразований путем проведения лазерной корреляционной спектроскопии нативной плазмы крови с определением процентного вклада в состав плазмы частиц с различными значениями гидродинамического радиуса (см. Мерлич К.И. и др. Субфракционный состав плазмы крови при доброкачественных опухолях и раке молочной железы по данным лазерной корреляционной спектроскопии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1993., N 8, с. 193-195).

Недостатком способа является отсутствие четких количественных характеристик частиц плазмы крови, позволяющих осуществить у обследуемых раннюю достоверную диагностику облигатных форм предрака и злокачественных новообразований.

Задачей настоящего изобретения является обеспечение возможности ранней достоверной диагностики заболевания.

Техническим результатом изобретения является выявление количественных характеристик частиц плазмы крови, характерных для облигатных форм предрака и злокачественных новообразований.

Указанная задача решается за счет того, что в известном способе дифференциальной диагностики облигатных форм предрака и злокачественных новообразований путем проведения лазерной корреляционной спектроскопии нативной плазмы крови с определением процентного вклада в состав плазмы частиц с различными значениями гидродинамического радиуса, согласно изобретению, при наличии 35-55% частиц с гидродинамическим радиусом 5-30 мкм в составе плазмы диагностируют облигатную форму предрака, а при наличии этих частиц 55% и выше диагностируют злокачественные

и научно-техническим источникам информации показали, что предлагаемый способ неизвестен и не следует явным образом из уровня техники, т. е. соответствует критериям "новизна" и "изобретательский уровень".

Предлагаемый способ может быть применен в условиях массовых медицинских осмотров населения в клиничко-лабораторных центрах, оборудованных лазерным коррелометром, адаптированным к задачам исследования минимизированных объемов плазмы крови. Это подтверждает соответствие заявляемого способа критерию "промышленная применимость".

Заявляемый способ позволяет выявить и оценить изменения в системе гомеостаза, обеспечивая при этом высокую точность, экспрессность и невозмущающий исследуемую систему характер измерений. Исследования выполняются с минимальным объемом плазмы крови, препаративная подготовка которой обеспечивает сохранение уникальной нативной структуры ее частиц, с быстрой регистрацией математически обработанных результатов. Выявившиеся после длительных наблюдений значения такого диагностического показателя, как гидродинамический радиус частиц нативной плазмы крови и соотношение количества частиц различного размера в составе плазмы, позволяют с большой степенью достоверности осуществлять равную диагностику облигатных форм предрака (хронический атрофический гастрит, полипов сигмовидной и прямой кишок, фиброаденоматоз, множественные полипы желудка и др.) и злокачественных новообразований (см. таблицы).

Заявляемый способ осуществляют с помощью лазерного корреляционного спектрометра, разработанного в Санкт-Петербургском отделении НПО "Прогресс" при АМН РФ под руководством проф. Л.А. Носкина. Полученный в процессе измерения спектр регулируют и классифицируют с помощью специальной программы в персональном компьютере IBM PS/AT - 286. Результаты заносятся в банк данных, организованный на магнитном носителе персонального компьютера.

Заявляемый способ осуществляют следующим образом.

Взятие крови осуществляют строго натошак из мякоти ногтевой фаланги кисти обычным меланжером, предварительно смоченным антикоагулянтом (цитрат Na). Содержимое меланжера вносят в 3 объема физиологического раствора, помещенный в пластмассовую коническую центрифужную пробирку типа "Эппендорф" объемом 0,7 мл. После кратковременной экспозиции (15-20 мин) образец центрифугируют 5 мин при 2500 об/мин и из надосадочной жидкости отбирают 100 мкл, которые переносят в чистую пробирку того же типа с герметически закрывающейся пластмассовой крышкой. Все перечисленные процедуры проводят при комнатной температуре. Отработанный образец разведенной плазмы крови замораживают в морозильной камере при -20 °C и в таком виде хранят до момента исследования.

комнатной температуре в течение 15-20 мин (до полного оттаивания), добавляют 0,3-0,4 мл физиологического раствора, тщательно перемешивают, центрифугируют на настольной центрифуге при 2500 об/мин в течение 15 минут. Затем отбирают надосадочную жидкость и помещают ее в измерительную кювету спектрометра, т. е. исследованию подвергают нативную плазму крови, разведенную физиологическим раствором в 12-15 раз. Накопление спектра проводят в течение 8 мин (до 800 000 накоплений). На основе сравнения полученного распределения частиц по размерам с эталонным банком данных с хорошей статистической достоверностью определяется принадлежность данной пробы к тому или иному виду (предрак или злокачественное новообразование) заболевания.

При определении в плазме крови человека наличия частиц с гидродинамическими радиусами 5-30 нм в соотношении 35-55% у обследуемого диагностируют облигатную форму предрака. При определении наличия этих частиц 55% и выше у обследуемого человека диагностируют злокачественные новообразования. При определении других соотношений этих частиц делают вывод об отсутствии данных заболеваний.

Пример 1.

Больная Р., 35 лет. Диагноз: рак молочной железы, III стадия онкологического процесса, метастазы в регионарных лимфоузлах, отдаленные метастазы.

Забор крови осуществлялся из мякоти ногтевой фаланги кисти обычным меланжером, предварительно смоченным антикоагулянтом (цитрат натрия). Содержимое меланжера аккуратно вносилось в три объема физиологического раствора, помещенных в пластмассовую коническую пробирку типа "Эппендорф". После кратковременной экспозиции (15-20 мин) образец центрифугировали при 2500 об/мин в течение 5 минут и затем из надосадочной жидкости осторожно отбирали 100 мкл, которые переносили в чистую пробирку того же типа с герметически закрывающейся пластмассовой крышечкой. Все перечисленные процедуры проводили при комнатной температуре. Отобранный образец разведенной плазмы крови замораживали в морозильной камере при -20 -50°C и в таком виде хранили до момента исследования.

Перед измерением однократно замороженный образец инкубировали при комнатной температуре в течение 15-20 мин (до полного оттаивания), добавляли 0,3-0,4 мл физиологического раствора, тщательно перемешивали, центрифугировали на настольной центрифуге (2500 об/мин в течение 15 минут) и надосадочную жидкость помещали в измерительную кювету лазерного спектрометра. Таким образом, исследованию подвергалась нативная плазма крови, разведенная физиологическим раствором в 12-15 раз.

Измерения проводили в лазерном корреляционном спектрометре, изготовленном в отделе молекулярной и радиационной биофизики Санкт-Петербургского института ядерной

объемов (до 0,1 мл) плазмы крови.

Образец (0,1 мл) помещали в измерительную кювету и проводили накопление спектра в течение 8 мин (до 800 000 накоплений). Полученный в процессе измерения спектр регуляризировали с помощью специальной программы в персональном компьютере IBM PS/AT - 286. В память ЭВМ информация заносилась в виде численных значений субградиентов спектра в диапазоне измеряемых частиц от 1 до 1000 нм. Для статистической обработки групп спектров использовали программу многомерного анализа - классификатор. С помощью многомерной классификации групповых спектров устанавливался статистический вес регистрируемых при парном анализе, представленном в виде абсолютных значений или в процентах.

Вклад в состав плазмы крови частиц мелкой фракции составил 68%, что свидетельствовало о наличии онкологического процесса. Результаты цитологического исследования биопсийного материала подтвердили диагноз.

Пример 2.

Больной М., 36 лет. Диагноз: центральный рак верхней доли легкого, III стадия онкологического процесса, метастазы в местных лимфоузлах, отсутствие отдаленных метастаз.

Этапы исследования плазмы крови произведены аналогично примеру 1.

Вклад в состав плазмы крови частиц мелкой фракции составил 76%, что свидетельствовало о наличии онкологического процесса. Результаты цитологического исследования биопсийного материала подтвердили диагноз.

Пример 3.

Больная К., 60 лет. Диагноз: хронический полипоз сигмовидной кишки.

Этапы исследования плазмы крови произведены аналогично примерам 1 и 2.

Вклад в состав плазмы крови частиц мелкой фракции составил 50%, что свидетельствовало о наличии предракового процесса. Результаты цитологического исследования биопсийного материала подтвердили диагноз.

Таким образом, заявляемый способ позволяет за счет выявления значения диагностического показателя обеспечить раннюю достоверную диагностику рака и предрака, что имеет принципиальное значение для повышения эффективности лечения онкологических заболеваний.

### Формула изобретения:

Способ дифференциальной диагностики облигатных форм предрака и злокачественных новообразований путем проведения лазерной корреляционной спектроскопии нативной плазмы крови с определением процентного вклада в состав плазмы частиц с различными значениями гидродинамического радиуса, отличающийся тем, что при наличии 35-55% частиц с гидродинамическим радиусом 5-30 нм в составе плазмы крови диагностируют облигатную форму предрака, а при наличии этих частиц в количестве 55% и выше диагностируют злокачественные новообразования.

Наименование диагностической методики	Степень достоверности
Термографическая методика	80-90%
Ультразвуковая методика	80-90%
Рентгенологическая методика	80-90%
Цитологическое исследование пункционного биоптата	80-96%
Лазерная корреляционная спектроскопия нативной плазмы крови	80-91%

RU 2105306 C1

RU 2105306 C1